

**Metode pengujian kadar logam berat timbal (Pb) dan kadmium (Cd) dalam daging, telur, susu, dan olahannya dengan menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)**





© BSN 2013

Hak cipta dilindungi undang-undang. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh isi dokumen ini dengan cara dan dalam bentuk apapun serta dilarang mendistribusikan dokumen ini baik secara elektronik maupun tercetak tanpa izin tertulis dari BSN

BSN  
Gd. Manggala Wanabakti  
Blok IV, Lt. 3,4,7,10.  
Telp. +6221-5747043  
Fax. +6221-5747045  
Email: [dokinfo@bsn.go.id](mailto:dokinfo@bsn.go.id)  
[www.bsn.go.id](http://www.bsn.go.id)

Diterbitkan di Jakarta



## Daftar isi

Daftar isi.....	i
Prakata .....	ii
1 Ruang lingkup.....	1
2 Istilah dan definisi .....	1
3 Prinsip.....	2
4 Peralatan .....	2
5 Bahan .....	2
6 Preparasi contoh.....	3
7 Prosedur .....	4
8 Perhitungan .....	6
9 Pelaporan .....	7
10 Keamanan dan keselamatan kerja .....	7
11 Jaminan mutu hasil pengujian .....	7
Bibliografi .....	8
Tabel 1 - Volume larutan standar yang ditambahkan untuk kontrol positif .....	5
Tabel 2 - Volume larutan standar yang ditambahkan untuk kontrol positif .....	6



## Prakata

Dalam rangka memberikan jaminan keamanan dan mutu pangan asal hewan terhadap komoditas yang akan dipasarkan di dalam dan luar negeri, maka perlu disusun suatu Standar Nasional Indonesia (SNI) metode pengujian.

Metode pengujian kadar logam berat timbal (Pb) dan kadmium (Cd) dalam daging, telur, susu, dan olahannya disusun dan dirumuskan oleh Subpanitia Teknis 67-03-S3 Metode pengujian peternakan. RSNi ini disusun dengan maksud untuk standarisasi metode pengujian penentuan kadar logam berat timbal (Pb) dan kadmium (Cd) dalam daging, telur, susu, dan olahannya secara kuantitatif dengan menggunakan spektrofotometer serapan atom (*Atomic Absorption Spectrophotometer/AAS*)/*Graphite Furnace (GF)* untuk mewujudkan jaminan keamanan dan mutu produk asal hewan dan mendukung perundangan-undangan negara Republik Indonesia yang berlaku di bidang Kesmavet.

Standar ini telah dibahas dalam rapat teknis dan terakhir disepakati dalam rapat konsensus pada tanggal 21 September 2012 di Jakarta yang dihadiri oleh ketua dan anggota Subpanitia Teknis 67-03-S3 Metode pengujian peternakan dan pihak terkait lainnya.

Standar ini telah melalui proses jajak pendapat pada tanggal 28 Desember 2012 sampai 1 Maret 2013 dengan hasil akhir RASNI.





# Metode pengujian kadar logam berat timbal (Pb) dan kadmium (Cd) dalam daging, telur, susu, dan olahannya dengan menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)

## 1 Ruang lingkup

Standar ini menetapkan metode pengujian untuk menentukan kadar logam berat timbal (Pb) dan kadmium (Cd) dalam daging, telur, susu, dan olahannya dengan menggunakan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)/*Graphite Furnace (GF)* dengan rentang uji Pb: 0,1 mg/kg sampai dengan 0.5 mg/kg, Cd: 0,1 mg/kg sampai dengan 0.5 mg/kg.

## 2 Istilah dan definisi

### 2.1

#### daging

bagian otot skeletal dari karkas ternak/hewan yang aman, layak dan lazim dikonsumsi oleh manusia, dapat berupa daging segar, daging segar dingin, atau daging beku

### 2.2

#### daging olahan

daging yang telah mengalami proses pengolahan

### 2.3

#### telur

telur yang dihasilkan oleh unggas yang belum mengalami proses pengolahan dan pengemasan untuk dikonsumsi manusia

### 2.4

#### telur olahan

telur yang telah mengalami proses pengolahan

### 2.5

#### susu

cairan yang berasal dari ambung ternak perah sehat dan bersih, yang diperoleh dengan cara pemerahan yang benar sesuai ketentuan yang berlaku, yang kandungan alaminya tidak dikurangi atau ditambah sesuatu apapun dan belum mendapat perlakuan apapun kecuali proses pendinginan

### 2.6

#### susu olahan

susu yang telah mengalami proses pengolahan

### 2.7

#### logam berat

elemen kimiawi metalik dan metaloida memiliki bobot atom dan bobot jenis tinggi yang dapat bersifat racun bagi makhluk hidup

### 2.8

#### air deionisasi (aqua demineral)

air yang diproses demineralisasi sehingga diperoleh air dengan daya resistensi 18 mega  $\Omega$ /cm



### 3 Prinsip

Penetapan jumlah (kuantitas) unsur-unsur logam dilakukan dengan Spektrofotometer Serapan Atom (SSA)/(Atomic Absorption Spectrophotometer/ (AAS)/Graphite Furnace (GF) yang dilengkapi dengan *background correction*. Unsur logam berat timbal (Pb) dan kadmium (Cd) dilepaskan dari matriks contoh dengan cara destruksi/pengabuan kering atau destruksi menggunakan *microwave* atau cara destruksi/pengabuan basah untuk contoh daging, telur, susu, dan olahannya. Hasil destruksi diatomisasi dengan GF. Atom-atom unsur tersebut berinteraksi dengan sinar lampu katoda (*hollow cathode lamp/HCL*) yang sesuai. Interaksi tersebut berupa serapan yang besarnya dapat dilihat pada tampilan (monitor) SSA. Jumlah serapan sinar sebanding dengan konsentrasi unsur-unsur logam tersebut.

### 4 Peralatan

- a. gelas beaker 25 mL, 100 mL, dan 250 mL;
- b. *blender/homogenizer*;
- c. botol *polypropylene*;
- d. cawan porselen (*crucible*) bertutup;
- e. labu destruksi/labu alas bulat 200 mL;
- f. corong plastik *polypropylene*;
- g. desikator;
- h. gelas ukur 25 mL dan 50 mL;
- i. pemanas listrik datar (*hot plate*);
- j. labu takar *polypropylene* 50 mL, 100 mL, dan 1 000 mL;
- k. tungku pengabuan (*furnace*);
- l. seperangkat *microwave* beserta vessel;
- m. mikropipet 20  $\mu$ L - 200  $\mu$ L, dan 100  $\mu$ L – 1 000  $\mu$ L;
- n. oven;
- o. pipet tetes;
- p. pipet volumetrik 1 mL, 5 mL, dan 10 mL;
- q. pisau;
- r. refrigerator/*chiller* dan/atau *freezer*
- s. sendok plastik;
- t. timbangan analitik dengan ketelitian  $\pm 0,0001$  g;
- u. wadah *polystyren*;
- v. seperangkat alat spektrofotometer serapan atom (*Atomic Absorption Spectrophotometer*) dengan *graphite furnace*.

**CATATAN** Semua peralatan gelas yang digunakan terlebih dahulu harus direndam dalam  $\text{HNO}_3$  : air deionisasi (1 : 9) kemudian dibilas dengan air deionisasi.

### 5 Bahan

- a. asam klorida pekat ( $\text{HCl}$  37%) p.a;
- b. asam klorida ( $\text{HCl}$  6 M); Encerkan 500 mL  $\text{HCl}$  37% dengan air deionisasi dan tepatkan hingga 1 000 mL.
- c. asam nitrat pekat ( $\text{HNO}_3$  65%) p.a;
- d. hidrogen peroksida ( $\text{H}_2\text{O}_2$  30%) p.a;
- e. asam nitrat ( $\text{HNO}_3$  0,1 M); Encerkan 6,83 mL  $\text{HNO}_3$  65% dengan air deionisasi dan tepatkan hingga 1 000 mL.



- f. amonium dihidrogen fosfat ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ ) p.a; Larutan  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  40 mg/mL (sebagai *matriks modifier*) :  
Timbang 2,42 g  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  larutkan dengan air deionisasi di dalam gelas beaker setelah larut dengan sempurna pindahkan ke dalam labu takar 50 mL dan tepatkan sampai garis batas.
- g. larutan standar timbal (Pb) dan kadmium (Cd).
- Larutan standar primer 1 000 mg/L.
  - Larutan standar sekunder pertama : 10 mg/L.  
Pipet 1 mL larutan standar primer 1 000 mg/L, masukkan ke dalam labu takar 100 mL dan encerkan dengan larutan asam nitrat 0,1 M. Larutan standar ini dapat disimpan paling lama 1 bulan di dalam botol *polypropylene* pada refrigerator.
  - Larutan standar sekunder kedua : 1 mg/L.  
Pipet 5 mL dari larutan sekunder pertama masukkan ke dalam labu takar 50 mL dan encerkan dengan larutan asam nitrat 0,1 M. Larutan standar ini dapat disimpan selama 1 bulan di dalam botol *polypropylene* pada refrigerator.
  - Larutan standar sekunder ketiga : 100 µg/L  
Pipet 5 mL dari larutan standar kedua sekunder masukkan ke dalam labu takar 50 mL dan encerkan dengan larutan asam nitrat 0,1 M. Larutan standar ini dapat disimpan paling lama 1 minggu di dalam botol *polypropylene*.
  - Larutan standar kerja dibuat dari larutan standar sekunder ketiga yang konsentrasinya disesuaikan dengan daerah kerja alat SSA yang digunakan untuk logam timbal (Pb) umumnya pada kisaran konsentrasi sebagai berikut :  
Untuk contoh daging, telur, susu cair, larutan standar kerja Pb dan Cd : (10; 15; 20; 30; 40; 50) µg/L, untuk contoh susu bubuk dan tepung telur larutan standar kerja Pb dan Cd : (1; 2; 3; 4;5) µg/L.

## 6 Preparasi contoh

### 6.1 Daging dan olahannya

Lumatkan/haluskan contoh daging atau olahannya sebanyak 250 g dengan blender/homogenizer hingga menjadi partikel kecil. Tempatkan contoh dalam wadah *polypropylene* yang bersih dan tertutup. Jika contoh tidak langsung dianalisis, simpan contoh dalam *chiller* atau *freezer* sampai saatnya untuk dianalisis. Jika terjadi pemisahan antara cairan dan padatan pada contoh, maka dilakukan homogenisasi ulang sebelum dilakukan analisis.

### 6.2 Telur dan olahannya

#### 6.2.1 Telur

Homogenkan minimal 5 butir telur dengan homogenizer hingga menjadi homogen. Tempatkan contoh dalam wadah *polypropylene* yang bersih dan tertutup. Jika contoh tidak langsung dianalisis, simpan contoh dalam *chiller* atau *freezer* sampai saatnya untuk dianalisis.

#### 6.2.2 Tepung telur

Aduk contoh tepung telur sebanyak 250 g hingga menjadi homogen. Tempatkan contoh dalam wadah *polypropylene* yang bersih dan tertutup. Jika contoh tidak langsung dianalisis, simpan contoh dalam suhu ruang sampai saatnya untuk dianalisis.



### 6.3 Susu dan olahannya

#### 6.3.1 Berbentuk padat

Lumatkan/haluskan contoh susu berbentuk padat sebanyak 250 g dengan *blender/homogenizer* hingga menjadi partikel kecil. Jika contoh tidak langsung dianalisis, simpan contoh dalam *chiller* atau *freezer* sampai saatnya untuk dianalisis. Jika terjadi pemisahan antara cairan dan padatan pada contoh, maka dilakukan homogenisasi ulang sebelum dilakukan analisis.

#### 6.3.2 Berbentuk bubuk

Aduk contoh susu berbentuk bubuk sebanyak 250 g hingga menjadi homogen. Tempatkan contoh dalam wadah *polypropylene* yang bersih dan tertutup. Jika contoh tidak langsung dianalisis, simpan contoh dalam suhu ruang sampai saatnya untuk dianalisis.

#### 6.3.3 Berbentuk cair

Aduk atau kocok contoh susu berbentuk cair sebanyak 250 mL hingga menjadi homogen. Tempatkan contoh dalam wadah *polypropylene* yang bersih dan tertutup. Jika contoh tidak langsung dianalisis, simpan contoh dalam *chiller* atau *freezer* sampai saatnya untuk dianalisis.

## 7 Prosedur

### 7.1 Destruksi dengan pengabuan kering (*dry ashing*)

- Timbang atau ukur contoh sebagai berikut :
  - daging, telur, susu berbentuk padat atau olahannya sebanyak 5 g;
  - susu berbentuk cair sebanyak 5 mL;
  - susu berbentuk bubuk atau tepung telur sebanyak 0,5 g.
- Timbang atau ukur masing-masing contoh diatas dalam cawan porselen (*crucible*) dan catat berat atau volumenya (W atau V).
- Uapkan contoh di atas *hot plate* pada suhu 100 °C sampai kering.
- Masukkan contoh kedalam tungku pengabuan dan tutup separuh permukaannya. Naikkan suhu tungku pengabuan secara bertahap 100 °C setiap 30 menit sampai mencapai 450 °C dan pertahankan selama 18 jam.
- Keluarkan contoh dari tungku pengabuan dan dinginkan pada suhu ruang. Setelah dingin tambahkan 1 mL asam nitrat 65% p.a, goyangkan secara hati-hati sehingga semua abu terlarut dalam asam, dan selanjutnya uapkan di atas *hot plate* pada suhu 100°C sampai kering.
- Setelah kering masukkan kembali contoh ke dalam tungku pengabuan, naikkan suhu secara bertahap 100 °C setiap 30 menit sampai mencapai 450 °C dan pertahankan selama 3 jam.
- Setelah abu terbentuk sempurna berwarna putih, dinginkan contoh pada suhu ruang. Tambahkan 5 mL asam klorida 6 M ke dalam masing-masing contoh, goyangkan secara hati - hati sehingga semua abu larut dalam asam. Uapkan di atas *hot plate* pada suhu 100 °C sampai kering.
- Tambahkan 10 mL asam nitrat 0,1 M dan dinginkan pada suhu ruang selama 1 jam, pindahkan larutan ke dalam labu takar *polypropylene* 50 mL dan tambahkan larutan *matriks modifier*, tepatkan sampai tanda batas dengan menggunakan asam nitrat 0,1 M.



## 7.2 Destruksi basah

- Timbang atau ukur contoh sebagai berikut :
  - daging, telur, susu berbentuk padat atau olahannya sebanyak 5 g;
  - susu berbentuk bubuk atau tepung telur sebanyak 0,5 g;
  - susu berbentuk cair sebanyak 5 mL.
- Timbang masing-masing contoh tersebut dalam labu destruksi.
- Tambahkan 10 mL asam nitrat pekat ke dalam labu destruksi dan 2 mL hidrogen peroksida 30 %. Kemudian panaskan pada pemanas listrik sampai mendidih, biarkan proses destruksi sampai matriks contoh hancur dan larutan terlihat menjadi jernih. Dinginkan, tambahkan air deionisasi sebanyak 10 mL dan pindahkan ke dalam labu takar 50 mL. Bilas labu destruksi 3 kali masing-masing dengan 5 mL air deionisasi. Tepatkan dengan air deionisasi.

## 7.3 Destruksi menggunakan *microwave*

- Timbang atau ukur contoh sebagai berikut:
  - daging, telur sebanyak 2 g,
  - susu sebanyak 2 mL,
 Timbang masing-masing contoh tersebut dalam *vessel*.
- Tambahkan 5 mL asam nitrat pekat, dan pasang *vessel* di dalam *microwave* dan selanjutnya lakukan destruksi sesuai dengan petunjuk alat *microwave* sampai selesai.
- Pindahkan larutan hasil destruksi ke dalam labu takar 50 mL. Bilas labu destruksi 3 kali masing-masing dengan 5 mL air deionisasi. Tepatkan dengan asam nitrat 0,1 M.

## 7.4 Pembuatan kontrol positif

- Jumlah contoh untuk pembuatan kontrol positif sesuai dengan 7.1.a) atau 7.2.a) atau 7.3.a).
- Untuk metode destruksi kering dan destruksi basah, tambahkan masing-masing larutan standar Pb, dan Cd sebagaimana Tabel 1 dibawah ini :

**Tabel 1 - Volume larutan standar yang ditambahkan untuk kontrol positif**

Jenis contoh	Larutan standar yang ditambahkan (µL)			
	Pb (10 µg/mL)	Cd (10 µg/mL)	Pb (1.0 µg/mL)	Cd (1.0 µg/mL)
Daging	100	80	-	-
Telur	100	80	-	-
Susu	-	-	40	80
Susu bubuk / tepung telur	100	80	-	-

- Untuk metode destruksi menggunakan *microwave*, tambahkan masing-masing larutan standar Pb, dan Cd sebagaimana Tabel 2 dibawah ini :



Tabel 2 - Volume larutan standar yang ditambahkan untuk kontrol positif

Jenis contoh	Larutan standar yang ditambahkan (µL)			
	Pb (10 µg/mL)	Cd (10 µg/mL)	Pb (1.0 µg/mL)	Cd (1.0 µg/mL)
Daging	40	32	-	-
Telur	40	32	-	-
Susu	-	-	16	32
Susu bubuk / tepung telur	40	32	-	-

- d) Lakukan destruksi masing-masing kontrol positif sebagaimana prosedur destruksi contoh sesuai dengan 7.1.b) atau 7.2.b) atau 7.3.b), dan perhitungan perolehan kembali dapat dihitung dengan rumus pada 11.b.

### 7.5 Pembuatan blanko pereaksi

Lakukan langkah 7.1 atau 7.2 atau 7.3 tetapi tanpa contoh maupun standar.

### 7.6 Pembacaan larutan standar kerja

- Gunakan air deionisasi untuk mengkondisikan nilai serapan menjadi nol (*autozero*), pada masing-masing panjang gelombang yang digunakan. Baca satu seri larutan standar dan larutan blanko di atas pada alat spektrofotometer serapan atom pada panjang gelombang (Pb = 283,3 nm atau 217,0 nm; Cd = 228,8 nm) untuk mendapatkan kurva kalibrasi. Koefisien korelasi (r) minimal 0,99.
- Buat plot hubungan antara serapan (setelah dikurangi serapan larutan blanko) dengan konsentrasi standar (µg/mL). Apabila hasil pembacaan menunjukkan nilai koefisien korelasi (r) kurang dari 0,99 lakukan koreksi terhadap penyiapan larutan standar dan kondisi instrumen SSA. Apabila hasil pembacaan menunjukkan nilai koefisien korelasi (r) minimal 0,99 dapat dilanjutkan ke pembacaan contoh dan *spike*.
- Baca nilai serapan contoh dan *spike* pada alat SSA menggunakan panjang gelombang (λ) yang sesuai untuk masing-masing unsur logam.

## 8 Perhitungan

Konsentrasi logam Pb dan Cd (µg/g, µg/mL atau mg/kg, mg/L) dihitung dengan persamaan :

$$\text{Konsentrasi} = \frac{(C-B) \times Fp \times V}{Ww \text{ atau } Vw}$$

Keterangan :

- C = konsentrasi contoh dari hasil pembacaan SSA (µg/mL);  
 B = konsentrasi blanko contoh dari hasil pembacaan SSA (µg/mL);  
 V = volume akhir larutan contoh yang disiapkan (mL);  
 Fp = faktor pengenceran;  
 Ww = berat basah contoh (g);  
 Vw = volume contoh cair (mL).



## 9 Pelaporan

Hasil pelaporan dinyatakan dalam dua desimal dibelakang koma. Jika diperoleh angka desimal ketiga kurang dari 5 (lima) maka dilakukan pembulatan ke bawah, tetapi apabila lebih dari 5 (lima) dilakukan pembulatan ke atas.

Contoh : 14,454 dibulatkan menjadi 14,45  
14,466 dibulatkan menjadi 14,47

Jika diperoleh angka desimal ketiga dibelakang koma adalah 5 (lima), dan angka kedua genap, maka angka lima tersebut menjadi hilang tetapi bila angka kedua ganjil maka dilakukan pembulatan ke atas.

Contoh : 14,765 dibulatkan menjadi 14,76  
14,475 dibulatkan menjadi 14,48

## 10 Keamanan dan keselamatan kerja

Untuk menjaga keamanan dan keselamatan kerja selama melakukan analisis, maka perlu diperhatikan hal-hal sebagai berikut :

- Cuci tangan sebelum dan sesudah melakukan analisis.
- Gunakan jas laboratorium dan masker selama bekerja.
- Bekerja dengan asam kuat atau oksidator kuat harus dilakukan pada lemari asam.
- Pastikan blower lemari asam berfungsi dengan baik.
- Pastikan blower SSA berfungsi dengan baik.
- Pastikan tidak ada kebocoran pipa gas asetilen.
- Pastikan tabung gas dalam keadaan aman (misalnya diikat dengan rantai pada dinding dan diletakkan di luar ruangan).
- Pemipetan menggunakan pipet volumetrik harus dilakukan dengan bantuan pipet *bulb* atau pipet *pump*.
- Tersedia alat pemadam kebakaran di ruang kerja.

## 11 Jaminan mutu hasil pengujian

- Optimasi SSA disesuaikan dengan jenis unsur yang diuji.
- Hasil uji kontrol positif minimal mendapatkan nilai persen perolehan kembali (*recovery*) 80-115%.

Perhitungan nilai perolehan (*recovery*) dari kontrol positif :

$$NP = \frac{(X-Y)}{Z} \times 100\%$$

Keterangan :

NP = Nilai Perolehan;  
X = Konsentrasi yang terukur dari contoh spike (kontrol positif) (mg/kg);  
Y = Konsentrasi yang terukur dari contoh tanpa spike (mg/kg);  
Z = Konsentrasi spike (mg/kg).



## Bibliografi

AOAC, 2005. *Official Methods of Analysis. Methals and Other Elements. Chapter 9*, p 16-22;

Elsayed Elham M, dkk. 2011. *A survey of selected essential and toxic metal in milk in Egypt. Interantional Journal of Dairy Science Vol. 6 (2) : 158-164;*

Enb, M.A, dkk. 2009. *Chemical of Raw Milk and Heavy Metal behavior during processing of milk product. Global Veterinaria 3(3) : 268-275;*

FAO JECFA Monograph, Rome. 2006. Combined compendium of food additive specification. JECFA, 2005. Vol 4: Analitical methods, test procedure and laboratory solutions used by and referenced in the food additive spesification. Metalic impurities. p 62-78. Food and Agriculture Organization Of The United Nation, Rome;

Lombardi, 2005. *Aspects of Meat Quality: trace element and B vitamins in raw and cooked meats. J. Food Comp. Anal. 18 : 39-46;*

Soeparno, 2011. Ilmu Nutrisi dan Gizi Daging. Penerbit Gadjah Mada University Press;

SNI 7387:2009, Batas maksimum cemaran logam berat dalam pangan.

